

# 脑栓通胶囊有效成分含量测定方法研究\*

彭 维<sup>1</sup>, 苏薇薇<sup>1</sup>, 谢称石<sup>2</sup>, 陈 思<sup>1</sup>, 严凤仙<sup>1</sup>

(1. 中山大学广州现代中药质量研究开发中心, 广东 广州 510275;

2. 广东华南药业集团有限公司, 广东 东莞 528303)

**摘要:** 为完善脑栓通胶囊的质量标准, 全面监控其质量, 采用 HPLC 法建立测定其中香蒲新苷、异鼠李素-3-O-新橙皮苷、芍药苷、 $\beta$ -蜕皮甾酮的含量测定方法。研究了 12 批次药品中 4 个有效成分含量, 表明本法具有准确、简便、经济实用等优点, 可同时测定君药蒲黄中的香蒲新苷、异鼠李素-3-O-新橙皮苷, 臣药赤芍和漏芦中的芍药苷、 $\beta$ -蜕皮甾酮含量, 为控制该药质量提供了新方法。

**关键词:** 脑栓通胶囊; 香蒲新苷; 异鼠李素-3-O-新橙皮苷; 芍药苷;  $\beta$ -蜕皮甾酮

**中图分类号:** R285   **文献标志码:** A   **文章编号:** 0529-6579(2015)02-0089-03

## Quantitative Analysis of Effective Constituents in Naoshuantong Capsule

PENG Wei<sup>1</sup>, SU Weiwei<sup>1</sup>, XIE Chengshi<sup>2</sup>, CHEN Si<sup>1</sup>, YAN Fengxian<sup>1</sup>

(1. Guangzhou Quality R&D Center of Traditional Chinese Medicine,

Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Guangdong South China Pharmaceutical Group Company Limited, Dongguan 528325, China)

**Abstract:** A HPLC method of quantitative analysis was established to determine Typhaneoside, Isorhamnetin-3-O-neohesperidoside, Paeoniflorin and  $\beta$ -Ecdysonein in Naoshuantong Capsules for improving its quality standard. The present study determined the four effective contents in twelve batches of the medicine and proved that the new-established method is simple, accurate, economical and practical. The study provides a new method for quality control of Naoshuantong Capsule.

**Key words:** Naoshuantong Capsule; typhaneoside; isorhamnetin-3-O-neohesperidoside; paeoniflorin;  $\beta$ -Ecdysone

脑栓通胶囊由蒲黄、赤芍、郁金、天麻和漏芦五味药材组成, 具有活血通络、祛风化痰的功效, 用于风痰瘀血痹阻脉络引起的缺血性中风病中经络急性期和恢复期。其中君药蒲黄活血化瘀、通达血脉; 赤芍凉血行血, 祛瘀破积; 郁金行气解郁, 清气化痰、解气血痰火之郁遏, 与赤芍共为臣药; 天麻熄风止痉、通络化痰作用; 漏芦清解郁热、祛瘀通脉, 与天麻共为佐药; 全方共奏活血通络、祛风化痰作用。脑栓通胶囊现行质量标准【鉴别】项采

用薄层色谱鉴别了蒲黄、漏芦、天麻中的天麻素、赤芍中的芍药苷; 【含量测定】项采用高效液相色谱法仅对其中的芍药苷含量进行定量, 未建立处方中君药蒲黄的黄酮有效成分香蒲新苷和异鼠李素-3-O-新橙皮苷<sup>[1]</sup>、臣药漏芦中的有效成分 $\beta$ -蜕皮甾酮的定量方法<sup>[2]</sup>。本研究在所构建指纹图谱的基础上<sup>[3]</sup>, 采用 HPLC 法测定脑栓通胶囊中香蒲新苷、异鼠李素-3-O-新橙皮苷、芍药苷、 $\beta$ -蜕皮甾酮的含量, 完善了其质量控制标准, 现报道如下。

\* 收稿日期: 2014-06-17

基金项目: 国家科技支撑计划资助项目(2012BAI29B09); 广东省教育部科技部产学研结合资助项目(2011A091000008)

作者简介: 彭维(1971年生), 女; 研究方向: 药物分析; 通讯作者: 苏薇薇; E-mail: lsssw@126.com

## 1 仪器与试药

Ultimate 3000 DGLC 高效液相色谱仪 (美国戴安公司, DGP-3600SD 双三元泵、SRD-3600 脱气机、WPS-3000SL 自动进样器、TCC3000-RS 柱温箱、DAD 检测器、Chromleon6.8 数据处理软件); Agilent 1200 Infinity 超高效液相色谱仪 (四元泵、脱气机、自动进样器、柱温箱、UV 检测器); BP211D 电子分析天平 (德国沙多利斯公司); KQ-250DE 数控超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司); 色谱柱: Ultimate AQ-C<sub>18</sub> (3 μm, 150 mm × 4.6 mm); Inertsil ODS-3 (3.5 μm, 150 mm × 4.6 mm); Venusil MP C<sub>18</sub> (3 μm, 150 mm × 4.6 mm)。

香蒲新苷 (供含量测定用, 批号 111573-200402); 异鼠李素-3-O-新橙皮苷 (供含量测定用, 批号 111571-200604); 芍药苷 (供含量测定用, 批号: 110736-201136); β-蜕皮甾酮 (供含量测定用, 批号 111638-200402); 均由中国药品生物制品检定所提供。脑栓通胶囊由广东华南药业集团有限公司提供。

乙腈 (色谱纯, B&J)、四氢呋喃 (色谱纯, B&J)、甲醇 (色谱纯, B&J)、磷酸 (色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司), 水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂 (柱长为 150 mm, 内径为 4.6 mm, 粒径为 3 μm); 线性梯度洗脱时间 0~70 min, 流动相 A: 乙腈 (φ) 1.7% → 20%, 流动相 B: 四氢呋喃 (φ) 0.2% → 10%, 流动相 C: 0.05% 磷酸 (φ) 溶液 98.1% → 70%, 检测波长为 254 nm; 柱温为 20 °C; 流速为 1.1 mL/min; 理论板数按芍药苷峰计算应不低于 6 000。

### 2.2 样品溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备 分别精密称取香蒲新苷、异鼠李素-3-O-新橙皮苷、芍药苷、β-蜕皮甾酮对照品适量, 加 φ=30% 甲醇配制成每 mL 各含有 2.95、36.8、26.2 和 52.2 mg 的混合对照品溶液, 备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品内容物适量, 混匀, 取约 2.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量

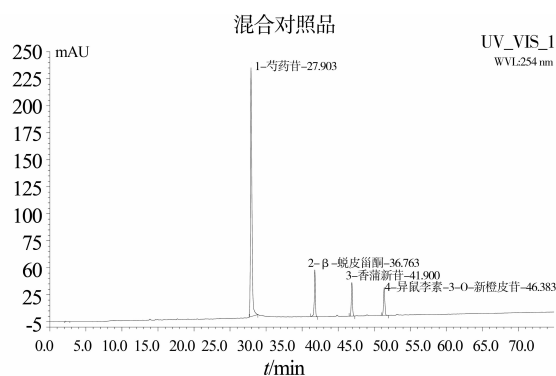
取续滤液 20 mL, 减压回收溶剂至干, 残渣加 φ=30% 甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中, 加 φ=30% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 离心, 取上清液, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

### 2.3 检测波长的选择

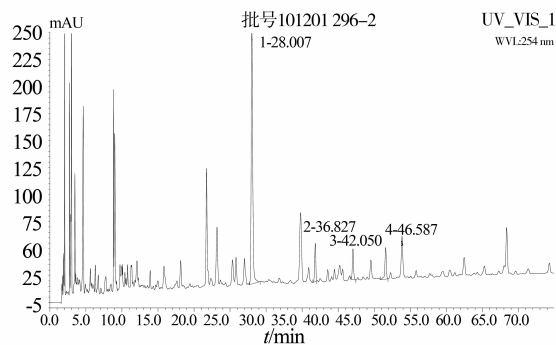
吸取混合对照品溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 在 190~300 nm 扫描分离的各色谱峰的 DAD 光谱图。以流动相为溶剂, 香蒲新苷、异鼠李素-3-O-新橙皮苷的最大紫外吸收波长为 254 nm; β-蜕皮甾酮的最大紫外吸收波长为 250 nm; 芍药苷的最大紫外吸收波长为 233 nm; 故选择 254 nm 为检测波长。

### 2.4 专属性试验

分别吸取混合对照品溶液、供试品溶液各 10 μL 注入液相色谱仪, 按相应色谱条件记录色谱图, 结果表明专属性好 (图 1)。



A: 混合对照品 (1:芍药苷;2:β-蜕皮甾酮;3:香蒲新苷;4:异鼠李素-3-O-新橙皮苷)



B: 脑栓通胶囊

图 1 专属性试验 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of Specific Test

### 2.5 方法学考察

2.5.1 线性范围 精密吸取上述混合对照品溶液各 1、2、5、10、15、20 μL 进样分析, 以进样量  $x$  (μg) 对峰面积积分值  $y$  进行线性回归, 得香蒲新苷、异鼠李素-3-O-新橙皮苷、芍药苷、β-

蜕皮甾酮的线性回归方程及范围, 见表1, 各标准曲线在线性范围内线性良好。

表1 脑栓通胶囊中4种有效成分的线性及范围

Table 1 Linearity and range of four effective contents in Naoshuantong Capsule

成分	回归方程	R	线性范围/ $10^{-2}$ $\mu\text{g}$
香蒲新苷	$y = 166.0x - 0.031$	1.000 0	3.68 ~ 73.6
异鼠李素 - 3-O - 新橙皮苷	$y = 225.4x - 0.027$	1.000 0	2.62 ~ 52.4
芍药苷	$y = 21.09x + 0.696$	0.999 5	283.2 ~ 5 664
$\beta$ -蜕皮甾酮	$y = 157.7x - 0.034$	1.000 0	5.22 ~ 104.4

2.5.2 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 连续进样 6 次, 记录各待测峰的峰面积, 香蒲新苷、异鼠李素 - 3 - O - 新橙皮苷、芍药苷、 $\beta$ -蜕皮甾酮的 RSD 分别为 0.34%、0.21%、1.13% 和 0.50%, 表明精密度好。

2.5.3 稳定性试验 取同一份供试品溶液, 在制备后的 0、2、4、6、8、12、24、48 h 进样分析, 记录各待测峰的峰面积积分值。结果显示香蒲新苷、异鼠李素 - 3 - O - 新橙皮苷、芍药苷、 $\beta$ -蜕皮甾酮的 RSD 分别为 0.41%、0.58%、0.33%、0.85%, 表明 48 h 内, 供试品溶液稳定性好。

2.5.4 重复性试验 取同一批脑栓通胶囊内容物 (批号: 101201), 按“供试品溶液的制备”项下制备 6 份供试品溶液, 分别进样, 记录各待测峰的峰面积积分值。结果显示: 香蒲新苷、异鼠李素 - 3 - O - 新橙皮苷、芍药苷、 $\beta$ -蜕皮甾酮的平均质量分数分别为: 0.374 8、0.322 9、29.46、0.428 4  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 分别为 1.73%、0.92%、0.96%、0.92%。

2.5.5 加样回收率 取同一批已知含量的本品内容物粉末约 1.25 g, 精密称定, 平行 6 份, 分别精密加入一定量的混合对照品溶液, 按“供试品的制备”项下方法制备供试品溶液, 测定并计算各成分的加样回收率及 RSD, 结果显示, 香蒲新苷、异鼠李素 - 3 - O - 新橙皮苷、芍药苷、 $\beta$ -蜕皮甾酮的加样回收率分别为 100.94%、95.73%、99.17%、96.63%, RSD 分别为 1.79%、1.90%、1.88%、1.99%。

2.5.6 测定结果 分别取 12 批脑栓通胶囊, 依法测定。采用外标法测定和计算本品中香蒲新苷、异鼠李素 - 3 - O - 新橙皮苷、芍药苷、 $\beta$ -蜕皮甾酮的含量, 结果见表 2。

表2 12批脑栓通胶囊中4个有效成分的含量测定结果

Table 2 Assay of Four Effective Contents in 12 Batches of

批号	Naoshuantong Capsule			$\text{mg} \cdot \text{粒}^{-1}$
	香蒲新苷	异鼠李素 - 3 - O - 新橙皮苷	芍药苷	
100302	0.084	0.082	13.499	0.155
100501	0.092	0.084	16.568	0.137
101201	0.152	0.131	11.973	0.174
110603	0.233	0.190	12.276	0.177
110604	0.256	0.206	11.947	0.192
110701	0.175	0.145	13.691	0.181
110702	0.178	0.147	13.499	0.178
110703	0.196	0.166	13.712	0.192
110704	0.169	0.136	13.680	0.185
110801	0.341	0.252	15.053	0.228
130201	0.308	0.283	16.872	0.253
130202	0.352	0.272	18.993	0.290

### 3 讨论

1) 笔者通过方法学验证、方法耐用性、系统适应性考察, 对脑栓通胶囊中 4 种有效成分含量测定的方法进行了探讨。结果表明: 采用 3 种不同填料的色谱柱, 2 种不同型号的仪器测定, 4 种有效成分与杂质均达到基线分离, 含量测定结果 RSD% 小于 3%, 笔者建立的同时测定异鼠李素 - 3 - O - 新橙皮苷、香蒲新苷、芍药苷、 $\beta$ -蜕皮甾酮的定量方法, 专属性、耐用性、重复性好, 准确度高, 为更全面评价脑栓通的质量提供了更简便、科学的方法。

2) 采用 HPLC 法测定不同时期生产的 12 批脑栓通胶囊中 4 个有效成分的含量, 结果表明: 成品中有效成分的含量与药材质量相关性较高, 相同批次投料药材生产的成品, 各有效成分含量变异较小。

3) 参考文献[4], 曾以芍药苷或香蒲新苷为对照品建立一测多评的测定方法, 研究结果表明: 使用不同仪器测定时, 母核结构相同的化合物相对校正因子重现性良好, 母核结构不同的化合物相对校正因子变异较大, 一测多评法可应用于母核结构相同的化合物异鼠李素 - 3 - O - 新橙皮苷与香蒲新苷的测定。

### 参考文献:

- [1] 范可武, 徐文豪. 蒲黄的化学及药理研究概况[J]. 中草药, 1996, 27(11): 693 - 696.
- [2] 布日额, 东格尔道尔吉, 其其格玛. 漏芦属植物化学成分及生物活性研究进展[J]. 中国民族民间医药杂志, 2004, 70: 291 - 294.
- [3] 陈思, 谢称石, 刘忠政, 等. 脑栓通胶囊高效液相色谱指纹图谱质量控制方法研究[J]. 中南药学, 2013, 11(6): 457 - 461.
- [4] 梁洁萍, 陈思, 谢称石, 等. 复方血栓通胶囊中 4 个有效成分的一测多评定量方法研究[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2013, 52(5): 123 - 126.